

# **Trabalho de Conclusão de Curso**

## **Caracterização do Conteúdo Intralesional de Ameloblastomas por Meio da Técnica de *Cell Block***

**Maria Fernanda da Silva Belatto**



**Universidade Federal de Santa Catarina  
Curso de Graduação em Odontologia**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA**

Maria Fernanda da Silva Belatto

**CARACTERIZAÇÃO DO CONTEÚDO INTRALESIONAL DE  
AMELOBLASTOMAS POR MEIO DA TÉCNICA DE *CELL*  
*BLOCK***

Trabalho apresentado à  
Universidade Federal de Santa  
Catarina, como requisito para a  
conclusão do curso de graduação  
em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Elena Riet  
Correa Rivero.

Florianópolis – SC

2012

Maria Fernanda da Silva Belatto

**CARACTERIZAÇÃO DO CONTEÚDO INTRALESIONAL DE  
AMELOBLASTOMAS POR MEIO DA TÉCNICA DE *CELL  
BLOCK***

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado, adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 18 de outubro de 2012.

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> Elena Riet Correa Rivero  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof., Dr. Filipe Modolo Siqueira  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Grasieli de Oliveira Ramos  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Aos meus pais, que sempre  
priorizaram a minha educação,  
conferindo todo o suporte necessário  
ao longo desses anos de graduação.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Adair e Sandra, pelo amor incondicional, pelo apoio constante e pelas oportunidades proporcionadas. Agradeço pelas vezes que dividiram comigo minha própria felicidade, pelos conselhos dados nos momentos apropriados e por sempre orientarem meu direcionamento. Muito do que conquistei até então, sem vocês, não seria possível.

Aos meus irmãos, Vinicius e Pedro, pela certeza de que serão meus melhores amigos sempre.

Ao meu namorado Gustavo pelo companheirismo e incentivo constantes.

A Professora Elena pela orientação e entusiasmo fundamentais na realização deste trabalho e de outros projetos paralelos.

A todos que participaram direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos que sempre me incentivaram a persistir e alegraram os meus dias.





*A woman uses her intelligence to find reasons to support her intuition.*

(Gilbert K. Chesterton)



## RESUMO

A biópsia incisional ou excisional para posterior análise histopatológica é o exame complementar de escolha para determinação do diagnóstico definitivo de lesões que acometem os ossos maxilares. No entanto, consiste em um procedimento cirúrgico que pode ser complexo em determinados sítios maxilomandibulares, bem como, possui contraindicações sistêmicas em determinados casos. Nesse contexto, surge a necessidade pela busca de novos métodos diagnósticos que, juntamente aos exames clínico e complementares imaginológicos, agilizem esse processo diagnóstico, permitindo um planejamento terapêutico adequado. A técnica de *cell block*, já reconhecida e vastamente utilizada em patologia médica, possui inúmeras vantagens, pois consiste na simples punção de material intralesional para posterior análise citopatológica. Dentre as lesões passíveis de punção aspirativa, estão os ameloblastomas dos maxilares, neoplasias benignas de origem odontogênica, que apesar de possuírem crescimento lento, são localmente invasivos, o que resulta em alta taxa de recidiva após tratamento conservador. Tendo em vista o grande significado clínico dos ameloblastomas, o objetivo deste estudo é caracterizar, através da técnica de *cell block*, o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares com o intuito de avaliar a eficácia dessa técnica como método complementar no diagnóstico dessas lesões. Para tal, um total de nove casos de ameloblastomas foram analisados. A análise citológica das lâminas obtidas através da técnica de *cell block* demonstrou a presença de hemácias, células inflamatórias e células epiteliais evidenciadas pela imunexpressão de pan-citoqueratina. Além disso, deve-se ressaltar a presença de material eosinófilo amorfo com aspecto vítreo na maioria dos casos estudados. Tais achados citológicos, à luz de dados clínicos e imaginológicos, fornecem uma base para a determinação do diagnóstico presuntivo dessa entidade patológica através da eliminação de outras hipóteses diagnósticas.

**Palavras-Chave:** Citologia, Biópsia, Tumores Odontogênicos, Ameloblastoma.



## ABSTRACT

*The incisional or excisional biopsy for a further histopathologic analysis is the complementary examination of choice to determine the definitive diagnosis of lesions affecting the maxillary bones. However, it consists in a surgical procedure that may be complex in certain maxillomandibular sites, as well, there are some systemic contraindications in certain cases. In this context, arises the need to search for new diagnostic methods that, together with clinical and complementary imaging exams, streamline this diagnosis process, allowing an appropriate therapeutic planning. The cellblock technique, widely known and used in average pathology, has numerous advantages, it consists of a simple puncture of intralesional material for subsequent cytological analysis. Among the lesions amenable for aspiration puncture, are the maxillary ameloblastomas, odontogenic benign neoplasms that, despite having slow growth, are locally invasive, which results in a high rate of recurrence after conservative treatment. Given the clinical meaning of ameloblastomas, the objective of this study is to characterize, through the cellblock technique, the intralesional content of ameloblastomas affecting the maxillary bones in order to evaluate the effectiveness of this technique as a complementary method in the diagnosis of these lesions. Therefore, it was analyzed a total of nine cases of ameloblastoma. The cytological analysis of the slides obtained by the cellblock technique has shown the presence of red blood cells, inflammatory cells and epithelial cells highlighted by immunostaining of pan-cytokeratin. It should also be noted the presence of eosinophils material amorphous glassy with in most cases. These cytological findings, in light of clinical and imaging data, provide a basis for determining the presumptive diagnosis of this disease entity by eliminating other possible diagnoses.*

**Keywords:** *Citology, Biopsy, Odontogenic Tumors, Ameloblastoma.*



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ameloblastoma .....	53
<b>Figura 2</b> - Análise citológica de material processado pela técnica do <i>cell block</i> em ameloblastomas (H&E) .....	54
<b>Figura 3</b> - Coloração imunoistoquímica para o anticorpo AE1/AE3 ...	55





## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Dados da amostra com relação a sexo, etnia e idade dos pacientes, e localização das lesões. .... 43
- Quadro 2** – Diagnóstico clínico *versus* diagnóstico histopatológico. . 44
- Quadro 3** – Dados provenientes da análise citológica do material processado de acordo com a técnica *cell block*..... 45



## LISTA DE ABRVIATURAS E SIGLAS

µm	Micrômetros
AE1/AE3	Anticorpos anti-pan citoqueratina
CK	Citoqueratina
DAB	Diaminobenzidina
H&E	Hematoxilina-Eosina
IHQ	Imunoistoquímica
ml	Mililitros
PAAF	Punção por agulha fina
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotações por minuto
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TOC	Tumor odontogênico ceratocístico
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina



## LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus <i>Celsius</i>
®	Marca registrada
%	Por cento



# SUMÁRIO

<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1 Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>24</b>
<i>1.1.1 Ameloblastomas.....</i>	<i>24</i>
<i>1.1.2 Cell Block como Método Complementar de Diagnóstico ....</i>	<i>28</i>
<i>1.1.3 Caracterização do Conteúdo Intralesional de Ameloblastomas.....</i>	<i>30</i>
<i>1.1.4 Imunoistoquímica .....</i>	<i>34</i>
<b>1.2 Justificativa.....</b>	<b>34</b>
<b>1.3 Objetivos.....</b>	<b>35</b>
<i>1.3.1 Objetivo Geral .....</i>	<i>35</i>
<i>1.3.2 Objetivos Específicos.....</i>	<i>35</i>
<b>2 ARTIGO .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>55</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>63</b>



## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

O diagnóstico de determinada doença representa a conclusão de uma linha de raciocínio alimentada por dados obtidos no exame clínico e nos exames complementares à disposição do cirurgião-dentista (KIGNEL, 2007). No entanto, pouco frequentemente, tal conclusão é obtida com facilidade, pois esse processo envolve conhecimentos, habilidades práticas e atitudes, exigindo profundamente da capacidade dos profissionais. A dificuldade com a qual o cirurgião-dentista obtém o diagnóstico de uma lesão está condicionada à sua experiência clínica, às peculiaridades das lesões que acometem a cavidade oral e à individualidade de cada caso. Para amenizar esses obstáculos, existem diferentes métodos auxiliares na determinação do diagnóstico definitivo, sendo a biópsia o principal deles.

A biópsia é um exame complementar que tem como finalidade a elucidação de uma determinada patologia após a remoção de um tecido vivo para estudo macro e microscópico. Tal exame complementar é de indiscutível importância para a determinação do diagnóstico definitivo, todavia, é um procedimento cirúrgico; possuindo, portanto, contraindicações. Algumas doenças sistêmicas como o diabetes *mellitus* descompensado, cardiopatias e doenças hematológicas são alguns exemplos de contraindicações de ordem geral para a realização de biópsias incisionais e excisionais, exigindo avaliação do médico responsável quanto ao melhor momento para a realização do exame.

Nesse contexto, surge a necessidade de desenvolvimento e estudo de novos métodos semiológicos que facilitem o processo de determinação do diagnóstico de lesões que acometem a cavidade oral e que reduzam o desconforto do paciente causado pelos métodos tradicionais. A técnica de *cell block* – a qual esta pesquisa se propõe estudar – é uma técnica laboratorial que pode corresponder às características supracitadas na determinação do diagnóstico de ameloblastomas, além de ser tecnicamente simples e possuir baixo custo.

A partir da manobra semiológica de punção aspirativa, obtém-se material intralesional de grande importância diagnóstica que, segundo Menegat (2006), muitas vezes é desprezado após a análise visual, sem que ocorra o encaminhamento para análise laboratorial. Em outros casos, segundo August *et al.* (1999), o material puncionado é imediatamente distendido numa lâmina histológica, corado e analisado.

A técnica de *cell block* – largamente utilizada em patologia médica, mas pouco explorada em Odontologia – preconiza a centrifugação do material puncionado via punção aspirativa seguida do processamento laboratorial histológico convencional do corpo de fundo formado pela centrifugação. A análise das lâminas citológicas obtidas por esse processo pode fornecer dados importantíssimos para a determinação do diagnóstico.

A fim de contemplar a importância do estudo de novas técnicas para a determinação do diagnóstico, este trabalho tem o objetivo principal de caracterizar, através da técnica de *cell block*, o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares com o intuito de avaliar a eficácia dessa técnica como método complementar no diagnóstico dessas lesões.

## 1.1 Revisão Bibliográfica

### 1.1.1 Ameloblastomas

O termo “ameloblastoma” foi sugerido por Churchill, em 1934, para substituir o termo “adamantinoma” criado por Malassez, em 1885, visto que esse implica a formação de tecido mineralizado, a qual não é observada na lesão em questão.

“Historicamente, o ameloblastoma foi reconhecido como entidade patológica há mais de um século e meio.” (REGEZI *et al.*, 2008) De acordo com Shafer *et al.* (1987), a primeira descrição completa de um ameloblastoma foi a de Falkson em 1879. Tal reconhecimento precoce pode ser atribuído à importância dessa lesão para a Odontologia que é justificada por sua frequência relativamente alta; crescimento local persistente; habilidade em produzir deformidade marcante antes de provocar debilidade grave e tendência à recidiva segundo Regezi *et al.* (2008). Além disso, descontrolado, o ameloblastoma pode causar significativa morbidade e, ocasionalmente, morte (MENDENHALL *et al.*, 2007).

“O ameloblastoma é o tumor odontogênico clinicamente significativo mais comum.” (NEVILLE *et al.*, 2009)

Os tumores odontogênicos compreendem um grupo complexo de lesões de diversos tipos

histopatológicos e comportamentos clínicos. Algumas dessas lesões são neoplasias verdadeiras e podem, raramente, exibir comportamento maligno. Outras podem representar malformações semelhantes a tumor (hamartomas). (NEVILLE *et al.*, 2009, p. 702)

Gardner e Pecak (1980) descreveram o ameloblastoma como um tumor de crescimento lento; localmente invasivo; com alta taxa de recorrência, se não removidos adequadamente; e com, praticamente, nenhuma tendência à metastatização.

A patogênese desta lesão está baseada na transformação neoplásica dos restos epiteliais com origem odontogênica que podem estar presentes no interior da maxila e da mandíbula. Atualmente, considera-se que os ameloblastomas possuem origem variada, no entanto, o estímulo responsável pelo início da transformação neoplásica ainda não foi bem esclarecido.

Assim, o tumor pode provavelmente derivar: (1) de restos do órgão do esmalte, tanto remanescentes da lâmina dentária como remanescentes da bainha de Hertwig – os restos epiteliais de Malassez; (2) do epitélio de cistos odontogênicos, particularmente do cisto dentígero, e de odontomas; (3) de distúrbios do desenvolvimento do órgão do esmalte; (4) de células basais do epitélio da superfície dos maxilares; ou (5) de epitélio heterotópico de outras partes do corpo, especialmente da glândula pituitária. (SHAFFER; HINE; LEVY, 1987, p. 256)

Segundo Regezi *et al.* (2008), os mecanismos através dos quais o ameloblastoma apresenta capacidade de crescimento e invasão incluem a superexpressão de TNF- $\alpha$  e de outras proteínas. Para Heikinheimo *et al.*, há alguns genes no ameloblastoma que contribuem para o desenvolvimento dessa lesão incluindo genes que codificam fatores de transcrição, fatores de crescimento e seus receptores, bem como constituintes de matriz extracelular.

De acordo com a classificação de cistos e tumores dos maxilares proposta pela Organização Mundial da Saúde (Barnes *et al.*, 2005), os ameloblastomas são tumores odontogênicos, ou seja, possuem origem no epitélio odontogênico sem a participação do

ectomesênquima. Essa mesma classificação divide os ameloblastomas em benignos e malignos, sendo os últimos extremamente raros – ameloblastoma metastático e carcinoma ameloblástico. O grupo dos ameloblastomas benignos é ainda subdividido em sólido convencional ou multicístico, unicístico, extra ósseo ou periférico e desmoplásico. Segundo Neville *et al.* (2009), cerca de 86% dos casos são ameloblastomas do tipo sólido convencional ou multicístico, 13% são do tipo unicístico e 1% do tipo periférico.

Segundo Neville *et al.* (2009), a maioria dos ameloblastomas do tipo sólido convencional ou multicístico é diagnosticada entre a quarta e sétima décadas de vida, não havendo predileção por gênero e com localização preferencial na mandíbula – região de molares e ramo ascendente. Ainda segundo o mesmo autor, o aspecto radiográfico mais característico é uma lesão radiotransparente multilocular, sendo descrito muitas vezes como “bolhas de sabão”, quando as loculações radiotransparentes são grandes, ou como “favos de mel”, quando as loculações são pequenas.

Os ameloblastomas do tipo unicístico – que possuem aspecto radiográfico unilocular bem definido, normalmente, envolvendo a coroa de um dente não irrompido, são mais comuns antes dos 20 anos de idade (EVERSOLE *et al.* 1984).

A classificação adotada pela Organização Mundial da Saúde descrita anteriormente é baseada em características clínicas e radiográficas dos ameloblastomas, todavia, essa entidade patológica possui características histopatológicas que permitiram o desenvolvimento de outras classificações.

Segundo Gardner e Pecak (1980), o ameloblastoma sólido convencional pode ser classificado, de acordo com as suas características histopatológicas, em:

- Folicular;
- Plexiforme;
- Acantomatoso;
- De células granulares;
- De células basais.

O padrão folicular é o padrão histológico mais comum e reconhecível. As ilhas de epitélio lembram o epitélio do órgão do esmalte em um estroma de tecido conjuntivo fibroso maduro. Os ninhos de epitélio possuem uma área central constituída de células arrançadas frouxamente, lembrando o retículo estrelado do órgão do esmalte. Essa parte central é circundada por uma camada única de células colunares

alongadas, semelhantes a ameloblastos. Os núcleos dessas células localizam-se em oposição à membrana basal (polaridade invertida) (NEVILLE *et al.*, 2009).

De acordo com Philipsen e Reichart (1998), os ameloblastomas unicísticos são classificados de acordo com o padrão de crescimento do epitélio neoplásico, sendo histologicamente classificados nos seguintes grupos:

- Crescimento luminal, ou seja, as células epiteliais ameloblásticas somente revestem a cápsula cística;
- Crescimento intraluminal, ou seja, há proliferação de células epiteliais ameloblásticas para o interior do lúmen da lesão;
- Crescimento mural, ou seja, há proliferação de células ameloblásticas no interior da cápsula cística.

Para Gardner e Pecak (1980), O diagnóstico de ameloblastoma concedido pelo patologista é essencial para o início do tratamento definitivo de um ameloblastoma sólido convencional ou multicístico. Ameloblastomas unicísticos ou periféricos são, geralmente, removidos em função de serem cistos ou epúlides, respectivamente, determinando-se sua verdadeira natureza apenas ao exame histopatológico subsequente, sendo essa posterior distinção importante para prever as chances de recidiva da lesão.

O tratamento dos ameloblastomas varia, segundo Neville *et al.* (2008), de simples enucleação e curetagem à ressecção em bloco, sendo esse determinado de acordo com o momento em que a lesão é detectada, ou seja, de acordo com o tamanho da lesão. Mendenhall *et al.* (2007) revisou a literatura e concluiu que o tratamento ideal para a maioria dos ameloblastomas é a ressecção. No entanto, a extensão da ressecção ainda é controversa – acredita-se que ampla ressecção com 1-1,5 cm de margens ósseas resulta em maior probabilidade de controle local da doença. Atualmente, existem tratamentos conservadores auxiliares, como a crioterapia e a eletrocauterização realizadas na superfície da loja óssea com o intuito de diminuir recidiva sem extensas margens de segurança (FONTES DA SILVA, 2004).

Ameloblastomas que acometem a maxila tendem a ter maior taxa de recidiva, pois a pouca espessura da cortical óssea maxilar é uma barreira menos eficaz à invasão tumoral em comparação com a mandíbula.

Tendo em vista o grande número de variações que os ameloblastomas dos maxilares podem apresentar, além das significantes características clínicas, radiográficas, histológicas e suas repercussões

no tratamento e prognóstico, evidencia-se a importância do estudo do diagnóstico dessa entidade patológica para os cirurgiões-dentistas e pacientes portadores.

### *1.1.2 Cell Block como Método Complementar de Diagnóstico*

Segundo Özlem Üçok *et al.* (2004), um dos mais importantes componentes do diagnóstico presuntivo é a escolha da técnica de biópsia, que deve ser simples, rápida, não-invasiva e segura. Para Nathan *et al.* (2000), a maioria dos métodos diagnósticos descritos pela literatura são inconvenientes ou demorados demais para um laboratório de patologia com rotina ativa, além disso, as suas técnicas preconizam o uso de produtos químicos com potencial de risco aos seres humanos.

Este estudo sugere a utilização da técnica de biópsia denominada punção aspirativa associada à técnica laboratorial denominada *cell block* para determinação do diagnóstico de ameloblastomas dos maxilares.

A aspiração do conteúdo intralesional pode proporcionar informações adicionais sobre a presença de material líquido ou seroso no seu interior, e auxiliar no diagnóstico clínico presuntivo (COLEMAN; NELSON, 1996). No entanto, o envio do material líquido ou semissólido puncionado de lesões para análise laboratorial ainda é pouco praticado por cirurgiões-dentistas. Na maioria das vezes, o material coletado é descartado pelo cirurgião-dentista após a análise clínica da consistência e coloração do conteúdo aspirado, o que representa um desperdício de material biológico de grande valia para o diagnóstico (MENEGAT, 2006).

Özlem Üçok *et al.* (2004) concluiu em seu estudo que a punção aspirativa deveria ser utilizada com maior frequência para estabelecimento do diagnóstico presuntivos nos casos de lesões intraósseas e de tecidos moles da região oral e maxilofacial, em função de sua conveniência, baixo custo, rapidez e não-invasividade, quando comparada com outros métodos de biópsia.

Quanto à técnica laboratorial *cell block*, Nathan *et al.* (2000) concluiu que *cell blocks* preparados a partir de fluidos de resíduos teciduais ou de punção aspirativa podem ser auxiliares preciosos para o estabelecimento de um diagnóstico citopatológico mais definitivo.

De acordo com Mayall *et al.* (1997), a técnica laboratorial denominada *cell block* é realizada através da centrifugação de amostras citológicas para a formação de *pellets* sólidos; que, posteriormente, são

fixados em formol e processados rotineiramente até a obtenção de blocos de parafina, possibilitando a obtenção de cortes finos para, então, serem corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina.

Tal método garante que as células aspiradas durante a manobra da punção sejam utilizadas em sua totalidade, o que não ocorre nos esfregaços citológicos tradicionais, onde a presença de hemorragia e celularidade escassa tornam, por vezes, o método insatisfatório. Adicionalmente, pode-se lançar mão de técnicas moleculares como a imunoistoquímica, para aumentar o aproveitamento do método (ARDENGH *et al.*, 2008).

No estudo realizado por Nathan *et al.* (2000), as lâminas citopatológicas obtidas pelo processamento através da técnica de *cell block* proporcionaram o fácil reconhecimento de células normais e anormais. Além disso, as características citomorfológicas foram muito bem conservadas – o núcleo, o nucléolo e o citoplasma apresentaram-se nítidos e precisos, assim como, os detalhes intracelulares.

Mayall *et al.* (1997) processou, de acordo com a técnica de *cell block*, 50 espécimes citológicos provenientes de lesões tumorais – como adenocarcinoma, carcinoma de mama e carcinoma hepatocelular, obtendo conteúdo celular suficiente para a determinação do diagnóstico em 46 dos casos examinados. Tal resultado satisfatório é atribuído às habilidades do profissional que realizou ou efetuou a punção aspirativa das lesões desse estudo.

Para Peterson *et al.* (2000), a punção aspirativa deve ser realizada em todas as lesões que contenham líquido no seu interior, excetuando-se os cistos de retenção das glândulas salivares menores. As lesões císticas devem ser aspiradas, quando estiverem submucosas, apresentando as consistências de crepitação papirácea ou flutuante à palpação. No entanto, sua utilização ainda está longe de ser universal, provavelmente em função da falta de familiaridade dos patologistas com os tipos de elementos celulares observados em preparações citológicas do material aspirado (KARNAUCHOW; BONIN, 1981).

A contribuição dos *cell blocks* para o diagnóstico citológico final suporta a ideia de que os mesmos devem ser considerados em todos os espécimes oriundos de punção aspirativa sempre que possível e em processos seletivos das amostras de citologia esfoliativa após revisão dos esfregaços (NATHAN *et al.*, 2000)

Menegat (2006) revisou a literatura, e constatou que a técnica de *cell block* é um método histológico bastante utilizado em Patologia Médica. Portanto, em função do respaldo que essa técnica possui na literatura médica e das suas vantagens, justifica-se o estudo de sua aplicabilidade para a determinação do diagnóstico dos ameloblastomas dos maxilares.

### 1.1.3 Caracterização do Conteúdo Intralesional de Ameloblastomas

Há 23 anos, Günham *et al.* (1989) já descreveu um caso de ameloblastoma unicístico diagnosticado por citologia aspirativa.

Citologicamente, foram observadas ilhas de células epiteliais em um fundo contaminado por histiócitos, granulócitos e eritrócitos. As células constituintes das ilhas demonstraram boa coesão celular e células individuais foram, raramente, detectadas. Em alguns dos aglomerados, as células periféricas exibiram-se em paliçada. Os núcleos, ligeiramente, excêntricos dessas células continham cromatina distribuída com ocasionais edentações em formato de V da membrana nuclear. O citoplasma era homogêneo e basofílico com a coloração de Papanicolau. A membrana citoplasmática era, geralmente, indistinta, exceto em alguns grupos que demonstraram projeções anastomosadas. Um diagnóstico citológico de “tumor benigno, sugestivo de ameloblastoma” foi feito. Após extensa excisão local, a lesão foi examinada histologicamente e comprovou-se ser um ameloblastoma unicístico (GÜNHAM *et al.*, 1989).

Anos após, Mathew *et al.* (1997) realizou um estudo retrospectivo consistindo de cinco casos de ameloblastomas primários e metastáticos, descrevendo os seguintes achados citopatológicos.

Observou-se esfregaços hipercelulares, apresentando aglomerados e ninhos de células neoplásicas. Nos casos benignos, fragmentos de tecido verdadeiro também foram verificados.



Esses eram formados por células muito coesas, hipercromáticas e com aspecto basalóide dispostas perifericamente em paliçada, além de possuírem arquitetura tridimensional. Em outras áreas, as células neoplásicas eram mais livremente organizadas e apresentaram populações de duas células distintas. As células menores eram mais densamente hipercromáticas com ocasionais nucléolos inconspícuos e pouco ou nenhum citoplasma. Elas foram mais numerosas em comparação com as células ligeiramente maiores poligonais, com menos hipercromasia nuclear, um padrão de cromatina aberta e abundante, pouco citoplasma claro e mal definido. O pleomorfismo citológico foi mínimo e figuras de mitose não foram identificadas. Em alguns esfregaços, uma terceira população de células com aspecto mesenquimal fusiforme e núcleos com aparência oval a alongada foram vistos. Esses tinham citoplasma abundante, alongado em forma de alça, vagamente mixóide e visto em aglomerados pouco coesos e dispersos. Nos aglomerados, os casos malignos metastáticos apresentaram um maior grau de atipia nuclear, hipercromasia, pleomorfismo e aglomeração. Os núcleos eram de formato ovóide a alongado, apresentando sobreposição frequentemente. Em outras áreas, um alto índice mitótico foi observado em um fundo granular. Conspícua moldagem nuclear também foi evidente, muitas vezes com nucléolos proeminentes. Falta de coesão não se estabeleceu como uma característica de malignidade (MATHEW *et al.*, 1996).

Através desse mesmo estudo, Mathew *et al.* (1996) concluiu que, com dados corretos provenientes dos exames clínico e radiográfico, o diagnóstico citológico dessa rara entidade patológica pode ser utilizado com precisão razoável.

Radhika *et al.* (1993) descreveu os achados citológicos de três casos histologicamente comprovados como ameloblastoma.

Observou-se, principalmente, dois tipos de células epiteliais: (1) células basalóides com citoplasma escasso e núcleo denso e oval; (2) células

escamosas com citoplasma abundante e núcleo central. As células basalóides epiteliais dispostas em paliçada foi uma característica notável. Essas células correspondem ao epitélio de revestimento ameloblástico. As células ameloblásticas e as células escamosas foram observadas separadamente, bem como, no mesmo aglomerado de células. O fundo foi eosinofílico e granular em todos os casos e demonstrou células fusiformes dispersas, além de células inflamatórias (RADHIKA *et al.*, 1993).

Stamatakos *et al.* (1994) descreveu um caso de ameloblastoma da maxila diagnosticado por punção aspirativa. Nesse estudo, o *cell block* apresentou numerosos cordões de epitélio neoplásico anastomosadas. Na periferia dos cordões, observou-se uma fileira de células colunares com núcleos orientados longe da membrana basal. Dessa forma, o diagnóstico de ameloblastoma foi determinado.

Tsamis *et al.* (2002) também descreveu um caso de ameloblastoma diagnosticado por punção aspirativa. Na análise citopatológica dos esfregaços de material intralesional aspirado, observou células basalóides e componentes do estroma. Os núcleos das células epiteliais eram redondos e normocromáticos. O citoplasma era mal definido e basofílico. Alguns grupos celulares apresentaram paliçada periférica. O componente estromal continha células fusiformes ou ovóides. Em várias áreas, observou-se glóbulos hialinos-estromais misturados ao componente epitelial. Com base na localização e características citológicas, o diagnóstico diferencial incluiu adenoma pleomórfico, adenocarcinoma e ameloblastoma.

Özlem Üçok *et al.* (2004) avaliou 63 casos de pacientes portadores de ameloblastoma diagnosticados pré-operatoriamente e pós-operatoriamente em um estudo retrospectivo; obtendo, através da correlação dos diagnósticos presuntivos obtidos por punção aspirativa e os diagnósticos histológicos, índices de eficiência do diagnóstico por punção aspirativa acima de 83,33%. No entanto, alerta que o diagnóstico presuntivo de ameloblastomas é muito difícil, mesmo com a orientação dos achados clínico e radiográficos; que, por sua vez, podem simular muitos outros cistos e tumores odontogênicos.

Özlem Üçok *et al.* (2004) conclui que um diagnóstico pré-operatório preciso auxilia o cirurgião a planejar a cirurgia mais extensivamente, dessa forma, evitando a recidiva dos ameloblastomas,

que refletem inadequação ou falha no procedimento cirúrgico realizado anteriormente.

Bisht *et al.* (2009) reforça a importância do diagnóstico pré-operatório de ameloblastomas.

Uma biópsia incisional para o diagnóstico pré-operatório de ameloblastomas seria complicada e traumática. A punção aspirativa com agulha fina de tumores odontogênicos e cistos da mandíbula são realizadas raramente, visto que a maioria das lesões císticas é gerenciada cirurgicamente com base na imagem. No entanto, o diagnóstico citológico prévio garante excisão adequada e margens de envolvimento corretas, que definitivamente previnem a recidiva (BISHT *et al.*, 2009).

No estudo realizado por August *et al.* (1999), quatro casos de ameloblastoma foram incluídos na amostra composta por 32 casos de lesões intraósseas dos maxilares. Dois casos de ameloblastoma foram precisamente diagnosticados, baseando-se na combinação da presença de células basalóides, estreladas e escamosas. Os outros dois espécimes continham componentes celulares inespecíficos, incluindo histiócitos, tecido fibroso, sangue e raras células epiteliais. Esses achados podem representar a amostra de uma área não-representativa do tumor ou área de degeneração cística. A amostra de uma parte não-representativa de uma lesão heterogênea pode contribuir para a falta de exatidão da punção aspirativa, especialmente nos casos com degeneração cística ou infecção secundária. Interpretação rápida e múltiplas amostras de diferentes partes da lesão podem ser necessárias para assegurar que a aspiração contém material celular diagnóstico. Além disso, quando o fluido é aspirado de uma lesão grande, o exame citológico do sedimento centrifugado pode melhorar o rendimento diagnóstico por concentração de células características.

August *et al.* (1993) também observou dificuldades referentes ao método diagnóstico realizado através de punção aspirativa de ameloblastomas, no entanto, acredita que essas dificuldades podem ser superadas

Quando a degeneração cística predomina, fluido será aspirado conduzindo à baixa celularidade e dificuldades na determinação do diagnóstico. Isso

aconteceu em dois de nossos casos. Entretanto, um exame cuidadoso do sedimento proveniente da centrifugação do fluido, em tais casos, é extremamente importante e pode revelar alguns aglomerados e a partir dos quais um diagnóstico pode ser dado. Além disso, os ameloblastomas têm citomorfologia suficientemente distintiva para permitir o diagnóstico por punção aspirativa (AUGUST *et al.*, 1993).

Bisht *et al.* (2009) concluiu que, apesar de a punção aspirativa ser complicada na região de cabeça e pescoço em função da alta vascularidade da área e a proximidade com grandes vasos sanguíneos, em mãos experientes é uma modalidade útil para o diagnóstico pré-operatório e deverá ser utilizada com mais frequência para lesões intra-ósseas dos maxilares. Achados citológicos, à luz de dados clínicos e radiológicos, irá fornecer um diagnóstico pré-operatório de confiança dos ameloblastomas na maioria dos casos, o que ajuda a planejar a cirurgia da melhor forma possível.

#### 1.1.4 Imunoistoquímica

Na rotina diária dos laboratórios de patologia, a análise histo ou citopatológica evidencia suas limitações, haja vista a infinidade de padrões e peculiaridades que uma lesão, tecido ou célula podem assumir, dificultando o trabalho do patologista em afirmar com certeza o que está sendo observado em suas lâminas histo e citopatológicas.

Visando a solução desse tipo de problema, houve avanços significativos das técnicas diagnósticas, principalmente, com o surgimento da imunoistoquímica ou imunocitoquímica, dependendo do tipo de material avaliado. Tal técnica objetiva identificar componentes tissulares ou celulares (antígenos) através da reação com anticorpos específicos em um fragmento histológico, esfregaço ou suspensão celular, sendo a principal vantagem dessa técnica é sua alta sensibilidade e especificidade (ALVES *et al.*, 1999; BODEY, 2002).

## 1.2 Justificativa

Haja vista o grande significado clínico dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares e as possíveis vantagens da técnica de *cell block* para a determinação do diagnóstico dessas lesões, justifica-se a condução do estudo em questão.

Almeja-se a possibilidade de reduzir a necessidade da realização de biópsias incisionais prévias ao tratamento para a determinação do diagnóstico histopatológico em alguns casos; pois, apesar de ser a técnica mais utilizada para a determinação do diagnóstico definitivo em Odontologia, é onerosa para o profissional e para o paciente.

### 1.3 Objetivos

#### 1.3.1 Objetivo Geral

Caracterizar, através da técnica de *cell block*, o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares com o intuito de avaliar a eficácia dessa técnica como método complementar no diagnóstico dessas lesões.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Processar, conforme a técnica de *cell block*, o material obtido por meio da punção aspirativa de lesões cujo diagnóstico clínico-radiográfico seja ameloblastoma;
- Descrever as lâminas histológicas obtidas a partir do processamento conforme a técnica de *cell block*;
- Relacionar os dados provenientes da análise citológica do material puncionado e processamento conforme a técnica de *cell block* com aqueles provenientes da análise histológica do material proveniente de biópsia incisional ou excisional;
- Avaliar os resultados com ênfase na eficácia da técnica de *cell block* como método diagnóstico complementar.

## 2 ARTIGO

*Artigo formatado conforme normas do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (acessadas em 06 de setembro de 2012).*

### **Caracterização do Conteúdo Intralesional dos Ameloblastomas dos Maxilares por Meio da Técnica de *Cell Block***

**Maria Fernanda da Silva Belatto**

Acadêmica do curso de graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.  
*mariafernanda.belatto@gmail.com*

**Elena Riet Correa Rivero**

Dra. Professora Adjunto, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.  
*riet@ccs.ufsc.br*

## Resumo

**Introdução:** As lesões císticas e tumorais que ocorrem nos maxilares exigem, na maioria dos casos, análise histopatológica do material obtido por meio de biópsia. Considerando que biópsia é um ato cirúrgico que pode ser complexo em determinados sítios maxilomandibulares, além de possuir contraindicações sistêmicas em determinados casos, surge a necessidade pela busca de novos métodos diagnósticos que agilizem tal processo, permitindo um planejamento terapêutico adequado. A técnica de *cell block* consiste na simples punção de material intralesional para posterior análise citopatológica. Dentre as lesões passíveis de punção aspirativa, estão os ameloblastomas dos maxilares, os quais podem possuir crescimento cístico ou sólido. **Objetivo:** Caracterizar, através da técnica de *cell block*, o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares com o intuito de avaliar a eficácia dessa técnica como método complementar no diagnóstico dessas lesões.

**Resultados:** Nove casos de ameloblastoma foram analisados. A análise citológica das lâminas obtidas demonstrou a presença de hemácias, células inflamatórias, células epiteliais evidenciadas pela imunexpressão de pan-citoqueratina e material eosinófilo amorfo com aspecto vítreo. **Conclusão:** Tais achados citológicos, à luz de dados clínicos e imaginológicos, fornecem uma base para a determinação do diagnóstico presuntivo dessa entidade patológica através da eliminação de outras hipóteses diagnósticas.

**Unitermos:** Citologia, Biópsia, Tumores Odontogênicos, Ameloblastoma.

## ***Abstract***

***Introduction:*** Cystic lesions and tumors that occur in the jaws require, in most cases, histopathological analysis of material obtained via biopsy. Whereas biopsy is a surgical procedure that can be complex in certain maxillomandibular sites, besides possessing systemic contraindications in certain cases, arises the need for the search for new diagnostic methods that streamline this diagnostic process, allowing an appropriate therapeutic plan. The cell block technique consists of a simple puncture of intralesional material for subsequent cytological analysis. Among the lesions amenable for aspiration puncture, are the maxillary ameloblastomas, which may have solid or cystic growth. ***Objective:*** To characterize, using the cellblock technique, intralesional content of ameloblastomas affecting the maxillary bones in order to evaluate the effectiveness of this technique as a complementary method in the diagnosis of these lesions. ***Results:*** Nine cases of ameloblastoma were analyzed. The cytological analysis of the slides obtained showed the presence of red blood cells, inflammatory cells, epithelial cells highlighted by the use of immunohistochemistry technique and eosinophils material amorphous glassy. ***Conclusion:*** These cytological findings in light of clinical and imaging data, provide a basis for determining the presumptive diagnosis of this disease entity by eliminating other possible diagnoses.

***Key Words:*** Citology, Biopsy, Odontogenic Tumors, Ameloblastoma.



## Introdução

O diagnóstico é a conclusão de uma linha de raciocínio alimentada por dados obtidos no exame clínico e nos exames complementares à disposição do cirurgião-dentista<sup>(9)</sup>. A dificuldade com a qual o cirurgião-dentista obtém o diagnóstico de uma lesão está condicionada à sua experiência clínica, às peculiaridades das lesões que acometem a cavidade oral e à individualidade de cada caso. Para amenizar esses obstáculos, existem diferentes métodos auxiliares na determinação do diagnóstico definitivo, sendo a biópsia o principal deles.

A biópsia incisional ou excisional é o exame complementar mais utilizado para elucidação de uma patologia, pois consiste na remoção de um tecido vivo para estudo macro e microscópico. Tal exame é de indiscutível importância para a determinação do diagnóstico definitivo, todavia, é um procedimento cirúrgico; possuindo, portanto, contraindicações<sup>(16)</sup>.

Nesse contexto, surge a necessidade do desenvolvimento e estudo de novos métodos semiológicos que reduzam o desconforto do paciente e que facilitem o processo de determinação do diagnóstico presuntivo – necessário para o planejamento do tratamento das lesões que acometem a cavidade oral<sup>(3)</sup>.

Um dos mais importantes componentes do diagnóstico presuntivo é a escolha da técnica de biópsia, que deve ser simples, rápida, não-invasiva e segura<sup>(19)</sup>, entretanto, a maioria dos métodos diagnósticos presuntivos descritos pela literatura são inconvenientes ou demorados demais para um laboratório de patologia com rotina ativa<sup>(11)</sup>.

A técnica de *cell block* é largamente utilizada em patologia médica<sup>(8)</sup>, mas pouco explorada em Odontologia, mesmo possuindo vantagens como custo reduzido, rapidez e simplicidade na execução<sup>(4)</sup>. Tal técnica preconiza a centrifugação do material puncionado de lesões bucais passíveis de punção para garantir o melhor aproveitamento das células aspiradas, diminuindo a dispersão celular dos esfregaços citológicos tradicionais<sup>(5)</sup>. O diagnóstico presuntivo obtido por análise citológica de ameloblastomas torna o planejamento cirúrgico mais eficaz, reduzindo o risco de recidiva desse tipo de lesão<sup>(3, 19)</sup>.

Os ameloblastomas são neoplasias benignas de origem odontogênica, que apesar de possuírem crescimento lento, são localmente invasivos, o que resulta em alta taxa de recidiva após tratamento conservador<sup>(6)</sup>. Visto o comportamento biológico agressivo,

o ameloblastoma é uma das neoplasias odontogênicas de maior significado na clínica odontológica<sup>(2, 15)</sup>.

Baseado nas características clínicas, radiográficas, histopatológicas e no comportamento biológico e prognóstico, os ameloblastomas são classificados em: sólido/multicístico, unicístico, periférico e desmoplásico, sendo que desses o mais frequente é o sólido/multicístico, seguido do unicístico. Os ameloblastomas periférico e desmoplásico são raros<sup>(2, 15)</sup>.

Haja vista o grande significado clínico dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares e as vantagens da técnica de *cell block* para a determinação do diagnóstico presuntivo dessas lesões, o objetivo deste estudo é caracterizar, através da técnica de *cell block*, o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares com o intuito de avaliar a eficácia dessa técnica. Almeja-se a redução, em alguns casos, da necessidade de biópsias incisionais prévias ao tratamento de ameloblastomas para a determinação do diagnóstico histopatológico por ser um método semiológico oneroso para o profissional e para o paciente.

## Material e Métodos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número 145/8.

Na amostra deste estudo, foram incluídos pacientes que concordaram participar desta pesquisa e apresentavam lesões císticas dos maxilares passíveis de punção aspirativa como manobra semiológica auxiliar, cujo diagnóstico histopatológico era ameloblastoma. Ao passo que os seguintes critérios de exclusão foram considerados:

- Material puncionado escasso ou insuficiente para a preparação da lâmina citopatológica;
- Impossibilidade de posterior realização de biópsia incisional ou excisional seguida por exame histopatológico.

## Procedimentos Puncionais

A punção aspirativa foi realizada em ambiente cirúrgico após o preparo do paciente – antissepsia do campo cirúrgico e anestesia local – e antes da realização de biópsia incisional ou excisional, conforme a indicação clínica de cada caso. Uma agulha de 18 *gauge* acoplada a uma seringa de 20 ml foi inserida na área de maior flutuação ou crepitação papirácea da lesão e o êmbolo da seringa foi tracionado.

A seringa que continha material intralesional puncionado foi acondicionada imediatamente em ambiente resfriado por gelo e encaminhada, juntamente à Ficha de Biópsia, ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina.

## Procedimentos Laboratoriais

No laboratório, o material foi transferido da seringa que o continha para um tubo de ensaio preenchido por solução de formol a 10% tamponado e centrifugado à velocidade de 2000 rpm por 20 minutos. O corpo de fundo – *cell pellet* – obtido após o término da centrifugação foi envolto por papel absorvente e fixado em solução de formol a 10% tamponado. Passadas, pelo menos, 24 horas; o material foi processado rotineiramente – desidratação, diafanização, impregnação e inclusão em parafina – para, em seguida, serem obtidos cortes de 3µm que possibilitem a coloração pela técnica Hematoxilina-Eosina (H&E). As lâminas coradas foram analisadas utilizando-se microscopia de luz, visando identificar componentes que caracterizem os ameloblastomas. Essa análise foi feita por um examinador previamente calibrado e um patologista bucal, inicialmente, de maneira independente, e, posteriormente, por consenso.

Para evidenciar a presença de células epiteliais, foram obtidos cortes de 3µm de espessura, estendidos em lâminas de vidro preparadas com a solução de 3-aminopropyltriethoxylene (Sigma®, St. Louis, MO, EUA), para realização da técnica de imunoistoquímica (IHQ), visando a marcação de pan-citoqueratina – componente presente na membrana citoplasmática de células epiteliais – através da reação com o anticorpo monoclonal AE1/AE3 (Dako®, USA). Primeiramente foi realizada a desparafinização e reidratação dos cortes, seguidas de imersão em solução de peróxido de hidrogênio a 2% com metanol para o bloqueio da peroxidase endógena. A recuperação antigênica foi realizada em um

*steamer* por 20 minutos com uma solução de pH 9.0 pré-aquecida por cinco minutos. O anticorpo primário anti-AE1/AE3 foi incubado por 18 horas à 4°C. Para amplificação da reação foi utilizado o kit Envision (EnVision®, DAKO, USA), contendo anticorpo secundário conjugado à peroxidase. Para revelação das reações, foi utilizada a solução cromógena DAB (Biocare CA, USA). Os cortes foram contracolorados com Hematoxilina de Harris, desidratados, diafanizados e as lâminas foram montadas com Entellan (Merck, Alemanha).

Todos os casos utilizados neste estudo tiveram o diagnóstico definitivo de ameloblastoma por meio de análise histopatológica a partir de biopsia incisinal ou excisional das lesões.

### **Análise Estatística**

Os dados obtidos por este estudo – dados de identificação do paciente, características das lâminas citopatológicas obtidas por meio da técnica de *cell block* e diagnóstico histopatológico das lesões – foram tabulados através do *software Office Excel 2007® (Microsoft Corporation)*.

### **Resultados**

Um total de nove casos de ameloblastomas foram analisados. No Quadro 01, observam-se os dados com relação às características clínicas das lesões.

**Quadro 1** – Dados da amostra com relação a sexo, etnia e idade dos pacientes, e localização das lesões.

<b>CÓDIGO</b>	<b>SEXO</b>	<b>ETNIA</b>	<b>IDADE</b>	<b>LOCALIZAÇÃO DA LESÃO</b>
CB 08	Masculino	Leucoderma	18	Ângulo de mandíbula
CB 23	Feminino	Leucoderma	17	Região posterior de mandíbula
CB 36	Masculino	Leucoderma	24	Região posterior de mandíbula
CB 72	Feminino	Melanoderma	26	Região posterior de mandíbula
CB 79	Feminino	Melanoderma	26	Região posterior de mandíbula
CB 109	Feminino	Leucoderma	26	Região posterior de mandíbula
CB 110	Feminino	Leucoderma	26	Região posterior de mandíbula
CB 120	Feminino	Leucoderma	51	Região anterior de mandíbula
CB 134	Feminino	Leucoderma	50	Mandíbula

No Quadro 02, observa-se o confronto entre o diagnóstico clínico e o diagnóstico histopatológico definitivo atribuídos aos casos pesquisados. Observa-se que, em dois casos, duas possibilidades diagnósticas foram consideradas e, em outros casos, a possibilidade de ameloblastoma nem foi considerada, evidenciando a necessidade da utilização de técnicas diagnósticas adicionais. O diagnóstico histopatológico foi determinado através da análise das lâminas obtidas a partir do processamento de fragmentos das lesões (Figura 1).

**Quadro 2** – Diagnóstico clínico *versus* diagnóstico histopatológico.

<b>CÓDIGO</b>	<b>DIAGNÓSTICO CLÍNICO</b>	<b>DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO</b>
CB 08	Ameloblastoma Unicístico/Cistos e Tumores Odontogênicos	Ameloblastoma Unicístico
CB 23	Ameloblastoma Unicístico	Ameloblastoma
CB 36	Cisto Paradental/ Ameloblastoma Unicístico	Ameloblastoma Unicístico
CB 72	Ameloblastoma Unicístico	Ameloblastoma Unicístico
CB 79	Ameloblastoma Unicístico	Ameloblastoma Unicístico
CB 109	Tumor Odontogênico Ceratocístico	Ameloblastoma
CB 110	Tumor Odontogênico Ceratocístico	Ameloblastoma
CB 120	Cisto Inflamatório Residual	Ameloblastoma Unicístico
CB 134	Ameloblastoma	Ameloblastoma Unicístico

Os dados coletados na análise das lâminas obtidas por meio da técnica de *cell block* estão no Quadro 03, sendo que a análise da presença ou ausência de células epiteliais foi auxiliada pelo uso da técnica de imunoistoquímica.

**Quadro 3** – Dados provenientes da análise citológica do material processado de acordo com a técnica *cell block*.

<b>CÓDIGO</b>	<b>Hemácias</b>	<b>Células inflamatórias</b>	<b>Tipos de células inflamatórias</b>	<b>Células epiteliais</b>	<b>Material eosinofílico amorfo de aspecto vítreo</b>
CB 08	Intensa	Discreta	Neutrófilos Plasmócitos	Ausente	Presente
CB 23	Ausente	Escassa	Neutrófilos	Presente	Ausente
CB 36	Intensa	Intensa	Neutrófilos Linfócitos	Ausente	Ausente
CB 72	Intensa	Intensa	Neutrófilos Plasmócitos Macrófagos	Presente	Presente
CB 79	Intensa	Moderada	Neutrófilos Linfócitos Macrófagos Plasmócitos	Presente	Presente
CB 109	Ausente	Intensa	Neutrófilos Linfócitos Macrófagos	Presente	Presente
CB 110	Ausente	Intensa	Neutrófilos Linfócitos Macrófagos	Presente	Presente
CB 120	Intensa	Moderada	Neutrófilos	Presente	Ausente
CB 134	Intensa	Moderada	Neutrófilos Linfócitos Macrófagos Plasmócitos	Presente	Ausente

Tais dados demonstram que as hemácias, quando encontradas, apresentaram-se em quantidade intensa, enquanto, as células inflamatórias variaram quanto à quantidade em escassa, moderada ou intensa, com presença tanto de leucócitos mononucleados como polimorfonucleados (Figura 2A, B e C). A presença de células epiteliais foi frequente nas amostras, sendo que essas, na maioria das vezes, se apresentavam isoladas com forma arredondada (Figura 2D) ou poligonal (Figura 2E). Em alguns casos foi possível observar a presença de fragmento de tecido epitelial (Figura 2F e G). A análise imunoistoquímica dos casos, utilizando o anticorpo AE1/AE3 facilitou a detecção de células epiteliais (Figura 3).

Deve-se ressaltar a presença de material eosinófilo amorfo com aspecto vítreo como um achado frequente na presente amostra (Figura 2H, I e J).

## Discussão

A necessidade do estabelecimento eficaz de um diagnóstico presuntivo confiável e, posteriormente, de um diagnóstico definitivo das lesões que acometem os ossos maxilares é essencial para o planejamento de uma conduta terapêutica adequada. Essa necessidade leva ao estudo de métodos diagnósticos alternativos, visto que um procedimento cirúrgico para a realização de uma biópsia incisional ou excisional para posterior análise histopatológica pode ser complexa em determinados sítios maxilomandibulares, além de possuir contraindicações sistêmicas em determinados casos<sup>(12)</sup>.

Recentemente, estudos demonstram as vantagens e a aplicabilidade do uso de punção aspirativa seguida da técnica de *cell block*<sup>(12, 14, 16)</sup> em lesões císticas dos maxilares. Tal técnica é simples, rápida, de baixo custo e pouco invasiva<sup>(16, 19)</sup>. Além disso, as lâminas citopatológicas obtidas pelo processamento através da técnica de *cell block* proporcionam o fácil reconhecimento de células, pois as características citomorfológicas permanecem muito bem conservadas após o processamento<sup>(11)</sup>. Outra vantagem dessa técnica é a possibilidade da execução de colorações especiais, como a de IHQ para a identificação de estruturas<sup>(17)</sup>, como no presente estudo, no qual foi possível a evidenciação de células epiteliais nas amostras em estudo, utilizando-se o anticorpo AE1/AE3.



Estudos prévios têm demonstrado que a avaliação citológica de material proveniente de punção do conteúdo intraluminal de lesões císticas dos maxilares é especialmente útil na diferenciação entre os cistos odontogênicos mais frequentes, como o cisto radicular, residual e dentígero, e o tumor odontogênico ceratocístico (TOC), principalmente, quando associada a um minucioso exame clínico e a exames complementares por imagem<sup>(12, 14, 16)</sup>. De acordo com Oenning *et al*<sup>(12)</sup>, a identificação de fendas de cristais de colesterol, na avaliação de *cell block*, é útil na determinação do diagnóstico presuntivo de cistos odontogênicos de etiologia inflamatória, assim como a identificação de fitas de paraceratina é sugestiva de TOC, eliminando, no caso de TOC, a necessidade de biópsia incisional para a realização do planejamento terapêutico dessas lesões<sup>(12, 14, 16)</sup>.

Alguns estudos demonstram a aplicabilidade da técnica de *cell block* na determinação do diagnóstico de ameloblastomas dos maxilares<sup>(7, 10, 13, 18)</sup>. Na maioria dos casos, a presença das células periféricas colunares dispostas em paliçada com polarização nuclear invertida, característica do ameloblastoma, possibilitou a determinação do diagnóstico pré-operatório<sup>(7, 10, 13, 18)</sup>. No entanto, é importante ressaltar que a maioria dos trabalhos que utilizou essa metodologia em ameloblastomas fez o uso de punção por agulha fina (PAAF) como método de coleta do material. Além disso, o tipo de lesão puncionada também influencia nos resultados. Nos ameloblastomas do tipo sólido convencional ou multicístico é mais fácil de obter material para avaliação por meio de PAAF do que por punção aspirativa convencional. Neste trabalho, aproximadamente 70% dos casos tiveram diagnóstico definitivo de ameloblastomas unicísticos, portanto, o material citologicamente avaliado provavelmente representava o conteúdo intraluminal das lesões, justificando a predominante ausência de estruturas específicas nas amostras estudadas.

Neste estudo, em aproximadamente 80% dos casos da amostra, observou-se a presença de células epiteliais, no entanto, a análise dessas células, quando isoladas, gerou muitas dúvidas ao observador em razão da variabilidade de formatos que essas podem apresentar após o processamento laboratorial. Portanto, fez-se necessária a utilização da técnica de IHQ para eliminar quaisquer dúvidas em relação à análise dessas células. Cabe ressaltar que em dois casos a presença de células epiteliais apenas foi evidenciada utilizando essa técnica para evidenciação das mesmas.

Apesar de terem sido observadas, na grande maioria dos casos, células epiteliais isoladas ou compondo um fragmento de tecido

epitelial, não foi possível estabelecer um diagnóstico, pois tais células não apresentavam características específicas ou sugestivas de ameloblastoma. No entanto, foi possível eliminar hipóteses diagnósticas, como TOC e algumas lesões císticas em função da ausência de paraceratina e fendas de cristais de colesterol respectivamente.

No estudo de Vargas *et al.*<sup>(20)</sup>, no qual se utilizou a técnica de *cell block* com realização de IHQ para evidênciação de células epiteliais por meio de anticorpos AE1/AE3 e CK 19, demonstrou a presença de células epiteliais em 100% dos casos de TOC. De acordo com esses autores, a expressão de citoqueratinas em células provenientes de aspiração é útil no diagnóstico citológico de TOC. No entanto, de acordo com nossos achados, células positivas para pan de citoqueratina também estão presentes nos ameloblastomas, sendo, portanto, a avaliação de outras estruturas, como a presença de paraceratina, importante para o diagnóstico de TOC.

Embora a técnica de *cell block* possua todas as utilidades e vantagens citadas, ela está sujeita a limitações, como pouca quantidade de material para análise ou ausência de material representativo da lesão, especialmente nos casos de infecção secundária<sup>(1, 14)</sup>. Para amenizar essas limitações, sugere-se a utilização PAAF como método de coleta de material em estudos semelhantes futuros.

## Conclusões

A análise citológica do material puncionado e processado pela técnica de *cell block* demonstrou, na maioria dos casos de ameloblastoma estudados, a presença de células epiteliais com formato esférico ou poligonal isoladas ou compondo um fragmento de tecido epitelial, células inflamatórias, hemácias e material eosinófilo amorfo com aspecto vítreo.

Tais achados citológicos, à luz de dados clínicos e imaginológicos, fornecem uma base para a determinação do diagnóstico presuntivo dessa entidade patológica através da eliminação de outras hipóteses diagnósticas.

## **Agradecimentos**

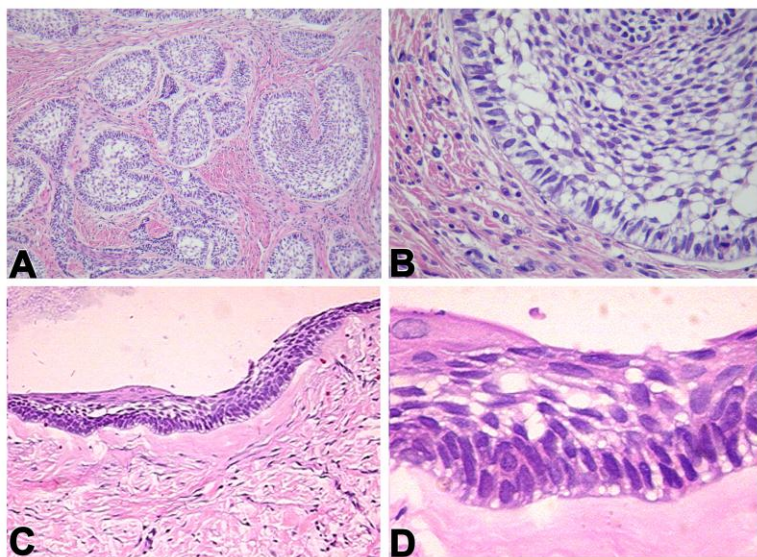
Ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina pelo apoio técnico e disponibilização de materiais para a realização desta pesquisa. Aos residentes em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago pelo auxílio na coleta do material puncionado. Ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela realização da técnica imunoistoquímica.

## Referências Bibliográficas

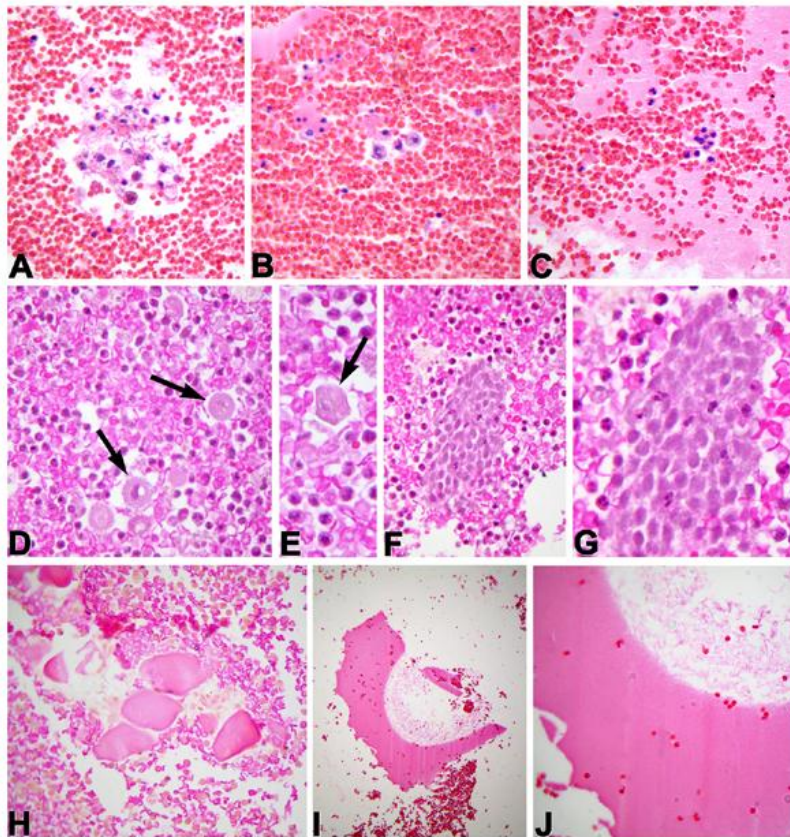
1. AUGUST, M. *et al.* Fine-needle Aspiration Biopsy of Intraosseous Jaw Lesions. *J Oral Maxillofac Surg*, v. 57, p. 1282-6, 1999.
2. BARNES, L. *et al.* *World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Head and Neck Tumours.* Lyon: IARC Press, 2005.
3. BISHT, S. *et al.* Role of Fine Needle Aspiration Cytology in Preoperative Diagnosis of Ameloblastoma. *Indian J Cancer*, v. 46, n. 4, p. 348-50, 2009.
4. CUPOLILO, S. M. N.; GOLLNER, A. M. *Cell Block: um instrumento indispensável no estudo das preparações celulares.* In: CONGRESSO Brasileiro de Citopatologia, 15, 2000, Belo Horizonte. *J Bras Patol.*, v. 36, n. 12, 2000.
5. DEREÇI, O.; OZTÜRK, A.; GÜNHAM, O. The Efficacy of Fine Needle Aspiration Cytology in the Preoperative Evaluation of Parakeratotic Odontogenic Keratocysts. *Acta Cytol*, v. 55, n. 2, p. 131-4, 2011.
6. GARDNER, D. G.; PECAK, A. M. J. The Treatment of Ameloblastoma Based on Pathologic and Anatomic Principles. *Cancer*, v. 46, n. 1, p. 2514-9, dez. 1980.
7. GÜNHAM, Ö. *et al.* A Case of Ameloblastoma Diagnosed by Fine-needle Aspiration Cytology. *The J Nihon Univ Sch Dent*, v. 31, p. 565-9, 1989.
8. KARNACHOW, P. N.; BONIN, R. E. Cell Block Technique for Fine Needle Aspiration Biopsy. *J Clin Pathol*, v. 35, n. 6, p. 688, 1982.
9. KIGNEL, S. *Estomatologia: bases do diagnóstico para o clínico geral.* São Paulo: Editora Santos, 2007.

10. MATHEW S. *et al.* Ameloblastoma: cytologic findings and literature review. *Acta Cytol*, v. 41, n. 4, p. 955-60, 1997.
11. NATHAN, N. A. *et al.* Improved Preparation and Its Efficacy in Diagnostic Cytology. *Am J Clin Path*, v. 114, p. 599-606, 2000.
12. OENNING, A. C. C. *et al.* Evaluation of the Cell Block Technique as an Auxiliary Method of Diagnosing Jawbone Lesions. *Braz Oral Res*, v. 26, p. 355-9, 2012.
13. RADHIKA S. *et al.* Ameloblastoma of the Mandible: diagnosis by fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol*, v. 9, n. 3, p. 310-3, 1993.
14. RAMOS, G. O. *et al.* Aplicabilidade da Técnica de *Cell Block* na Avaliação Citológica do Conteúdo de Lesões de Aspecto Cístico dos Maxilares. *Bras Patol Med Lab*, v. 48, n. 2, p. 121-7, 2012.
15. REICHART, P. A.; PHILLIPSEN, H. P. *Odontogenic Tumors and Allied Lesions*. Londres: Quintessence Publishing; 387p. 2004.
16. RIVERO, E. *et al.* Cell Block Technique as a Complementary Method in the Clinical Diagnosis fo Cyst-Like Lesions of the Jaw. *J Appl Oral Sci*, v. 19, n. 3, p. 269-73, 2011.
17. SALEH, H. A. *et al.* Comparison of Thin-Prep and Cell Block Preparation for the Evaluation of Thyroid Epithelial Lesions on Fine Needle Aspiration Biopsy. *Cytojournal*, v.5, n. 3, 2008.
18. STAMATAKOS, M. M. *et al.* Diagnosis of Ameloblastoma of the Maxilla by Fine Needle Aspiration: a case report. *Acta Cytol*, v. 39, n. 4, p. 817-9, aug. 1995.
19. ÜÇÖK, Ö. *et al.* Role of Fine Needle Aspiration Cytology in the Preoperative Presumptive Diagnosis of Ameloblastoma. *Acta Cytol*, v. 49, n. 1, p. 38-42, 2005.

20. VARGAS, P. *et al.* Fine Needle Aspiration Cytology as an Additional Tool in the Diagnosis of Odontogenic Keratocyst. *Cytopathology*, v 18: 361-6, 2007.

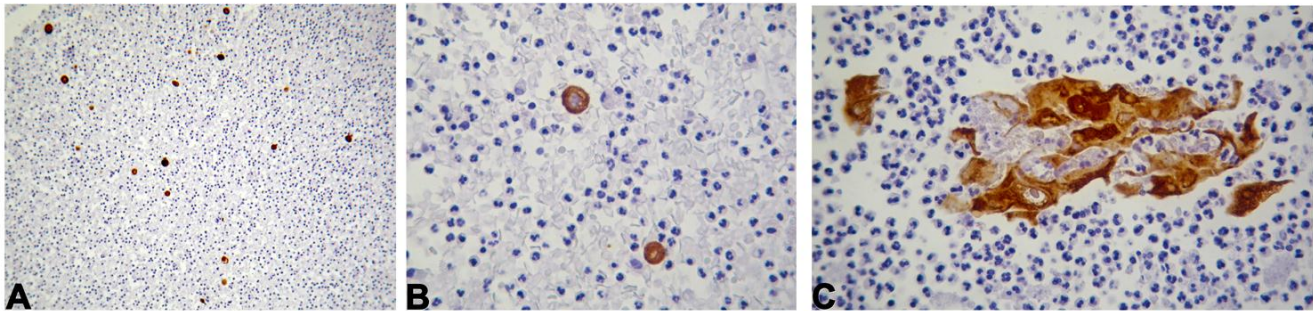


**Figura 1 - Ameloblastoma:** **A)** Ilhas de epitélio neoplásico de origem odontogênica dispostas em estroma de tecido conjuntivo fibroso em ameloblastoma sólido convencional (H&E 100×); **B)** Maior aumento de A, mostrando que essas ilhas são compostas por uma camada única de células periféricas, as quais apresentam polarização nuclear invertida, delimitando uma região de células arranjadas frouxamente (H&E 400×); **C)** Cápsula de tecido conjuntivo fibroso revestido por epitélio ameloblástico em ameloblastoma unicístico (H&E 100×); **D)** Maior aumento de C, mostrando que o epitélio de revestimento apresenta camada basal de células periféricas, as quais apresentam polarização nuclear invertida, sendo a camada suprabasal composta por células arranjadas frouxamente (H&E 400×).



**Figura 2 – Análise citológica de material processado pela técnica do *cell block* em ameloblastomas (H&E): A, B e C) Células inflamatórias crônicas associadas a hemácias (100×); D e E) Presença de células epiteliais (setas) (100×); F) Fragmento de tecido epitelial associado a células inflamatórias e hemácias (100×); G) Maior aumento de F (400×); H e I) Presença de material proteico eosinofílico amorfo com aspecto vítreo (100×); J) Maior aumento de I (400×).**





**Figura 3 – Coloração imunoistoquímica para o anticorpo AE1/AE3: A)** Células epiteliais visualizadas como pontos castanhos (100×); **B)** Maior aumento de A, mostrando as células epiteliais de formato arredondado (400×); **C)** Fragmento de epitélio evidenciado pela coloração imunoistoquímica (400×).

## REFERÊNCIAS

ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALLO, J. **Manual de Imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999.

ARDENGH, J. C.; LOPES C. V.; DE LIMA, L. F.; VENCO F.; SANTO G. C.; BEGNAMI, M. D.; MÓDENA J. L. *Cell Block Technique and Cytological Smears for the Differential Diagnosis of Pancreatic Neoplasms after Endosonography-guided Fine-needle Aspiration*. **Acta Gastroenterológica Latinoamericana**; v. 38, p. 246-251, 2008.

AUGUST, M.; FAQUIN W. C.; FERRARO N. F.; KABAN L., B. *Fine-needle Aspiration Biopsy of Intraosseous Jaw Lesions*. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, Boston; v. 57, p. 1282-1286, 1999.

BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P.; SIDRANSKY. D. **Genética e Patologia dos Tumores de Cabeça e Pescoço**: classificação de tumores da Organização Mundial de Saúde. 1. ed. São Paulo: Editora Santos, 2009.

BISHT, S.; KOTWAL, S. A.; GUPTA, P.; DAWAR, R. *Role of Fine Needle Apiration Cytology in Preoperative Diagnosis of Ameloblastoma*. **Indian Journal of Cancer**, Delhi; v. 46, n. 4, p. 348-350, oct.-dec. 2009.

BODEY, B. *The significance of immunohistochemistry in the diagnosis and therapy of neoplasms*. **Expert Opin Biol Ther**, v. 2, n. 4, p. 371-93, 2002.

COLEMAN, G. C.; NELSON, J. F. **Princípios de Diagnóstico Bucal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1996.

CRIVELLO JUNIOR, O. **Fundamentos de Odontologia: estomatologia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2005.

DA SILVA, F. B. Ameloblastoma: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço**, v. 33, n. 1, p. 7-13, 2004.

ESTRELA, C. **Metodologia Científica**: ensino e pesquisa em odontologia. 1. ed. São Paulo: Editora Artes Médicas, 2001.

EVERSOLE, L. R., LEIDER, A. S., STRUB D. *Radiographic Characteristics of Cystogenic Ameloblastoma*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**; v. 57, p. 572-577, 1984.

GARDNER, D. G.; PECAK, A. M. J. *The Treatment of Ameloblastoma Based on Pathologic and Anatomic Principles*. **Cancer**, Ontario; v. 46, n. 1, p. 2514-2519, dez. 1980.

GÜNHAM, Ö; FINCI, R.; CELASUN, B.; DEMIRIZ, M. *A Case of Ameloblastoma Diagnosed by Fine-needle Aspiratin Cytology*. **The Journal of Nihon University School of Dentistry**, Ankara; v. 31, p. 565-569, 1989.

HEIKINHEIMO, K. *et al.*, *Gene Expression Profiling of Ameloblastoma and Human Tooth Germ by Means of a cDNA Microarray*. **J Dent Res**, v. 81, n. 8, p. 525-30, 2002.

KARNAUCHOW, P. N.; BONIN, R. E. *Cell Block Technique for Fine Needle Aspiration Biopsy*. **Journal of Clinical Pathology**, Ontario; v. 35, p. 688, 1982.

KIGNEL, S. **Estomatologia**: bases do diagnóstico para o clínico geral. São Paulo: Editora Santos, 2007.

MATHEW S.; RAPPAPORT K.; ALI S. Z.; BUSSENIERS A. E.; ROSENTHAL D. L. *Ameloblastoma: cytologic findings and literature review*. **Acta Cytologica**, Baltimore; v. 41, n. 4, p. 955-960, apr. 1997.

MAYALL F.; CHANG, B.; DARLINGTON, A. *A Review of 50 Consecutive Cytology Cell Block Preparations in a Large General Hospital*. **Journal of Clinical Pathology**, Hamilton; v. 50, p. 985-990, 1997.

MENDENHALL, W. M.; WERNING, J. W.; FERNANDES, R.; MALYAPA, R. S.; MENDENHALL, N. P. *Ameloblastoma*. **American Journal of Clinical Oncology**, Gainesville; v. 30, n. 6, p. 645-648, dez. 2007.

MENEGAT, F. **Avaliação do Método *Cell Block* como Exame Complementar no Diagnóstico Diferencial entre Lesões Císticas dos Maxilares e o Tumor Odontogênico Ceratocístico**. Florianópolis: UFSC, 2006.

NATHAN, N. A.; NARAYAN, E.; SMITH, M. M.; HORN, M. J. *Improved Preparation and Its Efficacy in Diagnostic Cytology*. **American Journal of Clinical Pathology**, Queensland; v. 114, p. 599-606, 2000.

NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; BOUQUOT, J. E. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

OENNING, A. C. C. *Avaliação do Método de Cell Block como Exame Complementar no Diagnóstico Clínico-Radiográfico de Lesões de Aspecto Cístico dos Maxilares*. Florianópolis, 2010. Dissertação [Mestrado em Radiologia Bucomaxilofacial] – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <http://www.tede.ufsc.br/teses/PODO0365-D.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2011.

PETERSON, L. J. **Cirurgia Oral e Maxillofacial**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

PHILIPSEN, H. P.; REICHART, P. A. *Unicystic Ameloblastoma: a review of 193 cases from the literature*. **Oral Oncology**; v. 34, p. 317-325, 1998.

RADHIKA S.; NIJHAWAN R.; DAS A.; DEY P. *Ameloblastoma of the Mandible: diagnosis by fine-needle aspiration cytology*. **Diagnostic Cytopathology**, Chandigarh; v. 9, n. 3, p. 310-313, aug. 1993.

REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J.; JORDAN, R. C. K. **Patologia Oral: correlação clinicopatológica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2008.

REICHART, P. A.; PHILLIPSEN, H. P. *Odontogenic Tumors and Allied Lesions*. Londres: Quintessence Publishing, P. 387, 2004.

SHAFFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, B. M. **Tratado de Patologia Bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1987.

STAMATAKOS, M. M.; HOUSTON C. G. D.; FOWLER L. C. G. B.; BOYD M. E.; SOLANKI C.P. H. *Diagnosis of Ameloblastoma of the Maxilla by fine needle aspiration: a case report*. **Acta Cytologica**, Wilford Hall; v. 39, n. 4, p. 817-819, aug. 1995.

TSAMIS, I.; GIATROMANOLAKI, A.; TAMIOLAKIS, D.; GEORGIU, L.; MANAVIS, J; ALEXIADIS, G., THOMAIDIS, V.; SIVRIDIS, E. *Fine Needle Aspirations Cytology in Ameloblastoma of the Mandibule*. **Cytopathology**, Alexandroupolis; v. 13, p. 375-378, 2002.

ÜÇÖK, Ö.; DOĞAN, N.; ÜÇÖK C.; GÜNHAN Ö. *Role of Fine Needle Aspiration Cytology in the Preoperativa Presumptive Diagnosis of Ameloblastoma*. **Acta Cytologica**, Ankara; v. 49, n. 1, p. 38-42, feb. 2005.

VARGAS, P.; DA CRUZ PEREZ, D.; MATA, G.; DE ALMEIDA, O.; JONES, A.; GERHARD, R. *Fine Needle Aspiration Cytology as an Additional Tool in the Diagnosis of Odontogenic Keratocyst*. **Cytopathology**, v 18: 361-6, 2007.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Metodologia Expandida.

#### METODOLOGIA EXPANDIDA

Este estudo faz parte da linha de pesquisa Técnicas Laboratoriais de Diagnóstico: *Cell Block* desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Diagnóstico Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina e foi, previamente, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número 145/8 (ANEXO A).

O estudo proposto é, segundo Estrela (2001), do tipo observacional descritivo, pois busca caracterizar o conteúdo intralesional dos ameloblastomas que acometem os ossos maxilares a partir da análise de lâminas citopatológicas.

Na amostra deste estudo, foram incluídos pacientes que apresentaram lesões cujo diagnóstico clínico era ameloblastoma. Além disso, essas lesões devem ser passíveis de punção aspirativa como manobra semiológica auxiliar na determinação do diagnóstico. Os pacientes que constituíram a amostra foram oriundos, principalmente, do Ambulatório de Estomatologia e do Ambulatório de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, ambos pertencentes ao Núcleo de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e Patologia Bucal do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago. As clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina também proveram pacientes para a composição da amostra.

Para serem incluídos na amostra, os pacientes selecionados foram esclarecidos sobre os objetivos deste estudo e os procedimentos a serem realizados em razão do mesmo. Caso aceitassem participar, solicitou-se que assinassem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A punção aspirativa de cada ameloblastoma foi realizada em ambiente cirúrgico após o preparo do paciente – antissepsia do campo cirúrgico e anestesia local – e antes da realização de biópsia incisional ou excisional, conforme a indicação clínica do caso em questão. Uma

agulha de 18 *gauge* acoplada a uma seringa de 20 ml foi inserida na área de maior flutuação ou crepitação papirácea da lesão e o êmbolo da seringa foi tracionado. O material intralesional puncionado foi analisado macroscopicamente e a Ficha de Biópsia (ANEXO B) foi preenchida. A seringa que continha material intralesional puncionado foi acondicionada imediatamente em ambiente resfriado por gelo e encaminhada, juntamente à Ficha de Biópsia, ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para a composição da amostra foram considerados os seguintes critérios de exclusão:

- Material puncionado escasso ou insuficiente para a preparação da lâmina citopatológica;
- Impossibilidade de posterior realização de biópsia incisional ou excisional seguida por exame histopatológico.

No Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina, o material intralesional coletado de cada ameloblastoma – após análise macroscópica com ênfase na sua coloração, consistência e quantidade – foi processado segundo a técnica de *cell block*, ou seja, foi transferido da seringa que o continha para um tubo de ensaio preenchido por solução de formol a 10% e centrifugado à velocidade de 2000 rpm por 20 min. O corpo de fundo – *cell pellet* – obtido após o término da centrifugação foi envolto por papel absorvente e fixado em solução de formol a 10% em um recipiente de tamanho adequado. Passadas, pelo menos, 24 horas; o material foi processado rotineiramente – desidratação, diafanização, impregnação e inclusão em parafina – para, em seguida, serem obtidos cortes de 3µm que possibilitem a coloração pela técnica Hematoxilina-Eosina e a aplicação da técnica de imuno-histoquímica. As lâminas citopatológicas obtidas através da técnica de *cell block* coradas pela técnica Hematoxilina-Eosina foram analisadas utilizando-se microscopia de luz, visando identificar componentes que caracterizem os ameloblastomas. Essa análise foi feita por um examinador previamente calibrado e um patologista bucal, inicialmente, de maneira independente, e, posteriormente, por consenso.

Para evidenciar a presença de células epiteliais, foram obtidos cortes de 3µm de espessura, estendidos em lâminas de vidro preparadas com a solução de 3-aminopropyltriethoxylene (Sigma®, St. Louis, MO, EUA), para realização da técnica de imunoistoquímica, visando a marcação de pan-citoqueratina – componente presente na membrana citoplasmática de células epiteliais – através da reação com o anticorpo monoclonal AE1/AE3 (Dako®, USA). Primeiramente foi

realizada a desparafinização e reidratação dos cortes, seguidas de imersão em solução de peróxido de hidrogênio a 2% com metanol para o bloqueio da peroxidase endógena. A recuperação antigênica foi realizada em um *steamer* por 20 minutos com uma solução de pH 9.0 pré-aquecida por cinco minutos. O anticorpo primário anti AE1/AE3 foi incubado por 18 horas à 4°C. Para amplificação da reação foi utilizado o kit Envision (EnVision®, DAKO, USA), contendo anticorpo secundário conjugado à peroxidase e cromógeno. Para revelação das reações, foi utilizada a solução cromógena DAB (Biocare CA, USA) e contracoloração com Hematoxilina de Harris. Após desidratação e diafanização, as lâminas foram montadas com Entellan (Merck, Alemanha).

No Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina, o material biológico proveniente das biópsias incisionais ou excisionais realizadas posteriormente à punção aspirativa foi submetido ao processamento histopatológico rotineiro, corado através da técnica Hematoxilina-Eosina e analisado por um patologista bucal do Laboratório, utilizando-se microscopia de luz.

Os dados obtidos por este estudo – dados de identificação do paciente, características das lâminas citopatológicas obtidas por meio da técnica de *cell block* e diagnóstico histopatológico das lesões – foram tabulados através do *software Office Excel 2007®* (Microsoft Corporation).



## **ANEXOS**

**ANEXO A** – Certificado de aprovação de projeto de pesquisa emitido pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

**ANEXO B** – Ficha de Biópsia.

## ANEXO A



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão  
Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos

**CERTIFICADO Nº 113**

O Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584/GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

**APROVADO**

**PROCESSO:** 145/08 FR- 200503

**TÍTULO:** Avaliação do método de *cell block* como exame complementar no diagnóstico das lesões de aspectos císticos e tumorais dos maxilares.



**AUTORES:** Liliane Janete Grando, Elena Riet Correa Rivero e Anne Caroline Costa Oenning.

**DEPARTAMENTO.:** Odontologia/HU/CCS/UFSC.

**FLORIANÓPOLIS, 30 de junho de 2008.**

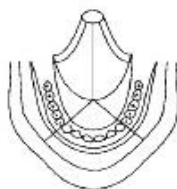
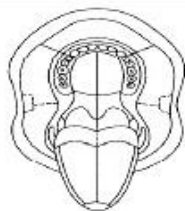
Coordenador do CEPSH/UFSC - Prof.º Washington Portela de Souza

## ANEXO B

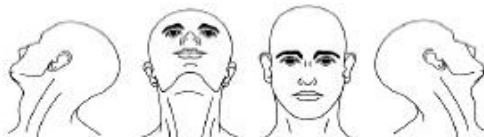
	<b>Laboratório de Patologia Bucal</b> Universidade Federal de Santa Catarina	
<b>FICHA DE BIÓPSIA</b>		
<input type="checkbox"/> ANATOMO-PATOLÓGICO <input type="checkbox"/> CITOLÓGICO		
<b>DADOS PESSOAIS DO PACIENTE:</b>		
Nome: _____		Promitório N°: _____
Nome da mãe: _____		
Endereço: _____		
Sexo: _____	Etnia: _____	Idade: _____ Profissão: _____
<b>DADOS CLÍNICOS</b>		
Tipo de lesão: <input type="checkbox"/> superficial <input type="checkbox"/> submucosa <input type="checkbox"/> subcutânea <input type="checkbox"/> intra-óssea		
Localização da lesão: _____		
<i>Ob: No verso da ficha represente, apropriadamente, o local e o tamanho da lesão.</i>		
Características clínicas da lesão: _____		
_____		
História clínica do caso: _____		
_____		
Outras informações (portador de prótese, fumo, álcool, linfadenopatia etc.): _____		
_____		
<b>TIPO DE BIÓPSIA</b>		
<input type="checkbox"/> Incisional <input type="checkbox"/> Excisional <input type="checkbox"/> Curetagem <input type="checkbox"/> Aspiração <input type="checkbox"/> Peça cirúrgica		
<b>REGLÃO DA BIÓPSIA:</b> _____		
<b>DIAGNÓSTICO CLÍNICO:</b> _____		
Procedência / Clínica / Disciplina: _____		
Nome do professor / Cirurgião: _____		
Telefone de contato: _____		E-mail: _____
Nome do aluno: _____		
Data do procedimento: _____		
Assinaturas:		
_____ Professor / Cirurgião		_____ Acadêmico
<b>Termo de Consentimento Informado:</b>		
Eu, _____, autorizo que o material enviado para análise seja incluído no banco de dados do LPB-UFSC.		
_____ Assinatura do paciente ou de seu responsável legal		

**IDENTIFIQUE A LOCALIZAÇÃO E TAMANHO DA LESÃO**

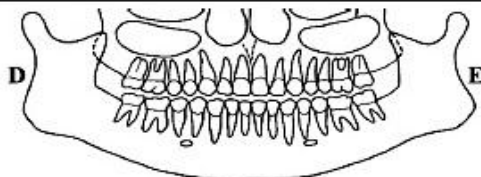
**LESÃO  
INTRA-ORAL**



**LESÃO  
EXTRA-ORAL**



**LESÃO  
INTRA-ÓSSEA**



**NOTA: EM CASO DE LESÃO INTRA-ÓSSEA ANEXAR O EXAME RADIOGRÁFICO**

**Para uso do laboratório**

**MACROSCOPIA:**